

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JERINGAU (*Acorus calamus*), TEMU
MANGGA (*Curcuma mangga*), DAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* Linn.)
TERHADAP EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN UTERUS TIKUS PUTIH
BETINA (*Ratus novergicus*) INDUKSI CISPLATIN**

SKRIPSI

**Oleh:
FATIKA
NIM. 14620093**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JERINGAU (*Acorus calamus*), TEMU
MANGGA (*Curcuma mangga*), DAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* Linn.)
TERHADAP EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN UTERUS TIKUS PUTIH
BETINA (*Ratus novergicus*) INDUKSI CISPLATIN**

SKRIPSI

Oleh:

FATIKA

NIM. 14620093

diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

**Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Untuk Memenuhi
Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JERINGAU (*Acorus calamus*), TEMU
MANGGA (*Curcuma mangga*), DAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* Linn.)
TERHADAP EKSPRESI RESEPTOR ESTROGEN UTERUS TIKUS PUTIH BETINA
(*Rattus norvegicus*) INDUKSI CISPLATIN**

SKRIPSI

**Oleh:
FATIKA
NIM. 14620093**

**telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai
salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 21 Juni 2021**

Susunan Dewan Penguji

Tanda Tangan

Ketua Penguji : Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

()

Anggota Penguji 1 : Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002

()

Anggota Penguji 2 : Prof. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197109192000032001

()

Anggota Penguji 3 : Mujahidin Ahmad, M. Sc
NIP. 19860512 201903 1 002

()



**Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi**

**Dr. Evka Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002**

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Syukur Alhamdulillah, dengan rahmat dan karunia-Nya dan sholawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan saya persembahkan kepada orang tercinta :

Ibuku, Ibu Yunanik yang memberi dukungan, motivasi, semangat, nasihat, bantuan moril dan materil yang tiada henti, dan juga do'a yang selalu dipanjatkan dalam setiap sujudnya. Tidak lupa juga kepada suamiku, Rohman Hakim yang selalu memberi semangat untuk melanjutkan tugas ini.

Dosen-dosen yang sudah membimbing Ibu Prof. drh Bayyinatul Muchtaromah, M.Si yang sabar membimbing dan mengingatkan, Pak Eko Budi Minarno, M.Si yang telah memotivasi untuk menyelesaikan skripsi ini, Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc yang memberikan wejangan dan nasihat, dan dosen-dosen yang lain terimakasih atas waktu, kesabaran, pengalaman yang telah diberikan, bimbingan dan motivasi selama kuliah dan proses pengerjaan skripsi.

Terimakasih kepada teman-teman Tim Penelitian JOKO TOLE Ilmi Firdaus, Nailul Maziyyah, Silvia Aini, Atik, Alif dan Jesika atas bantuan, bimbingan, kerja sama, motivasi, dan semangatnya.

Teruntuk teman-teman dan juga seluruh teman-teman seperjuanganku Biologi 2014, terimakasih yang sebanyak-banyaknya telah memberikan semangat, motivasi dan membantu selama penelitian berlangsung. Semoga langkah kita dalam mencari ilmu senantiasa di permudah oleh Allah SWT.

Terimakasih sebanyak-banyaknya teruntuk sahabat-sahabatku, Mbak Lely, Nisa, Luhah, Arifa, Mumun yang telah menjadi saudara saat suka maupun duka dan selalu memberikan support maupun motivasi kepadaku.

Serta semua pihak yang tidak bisa kusebutkan satu persatu yang telah membantu terealisasinya skripsi ini, semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya kepada kita semua. Aamiin Ya Robbal 'Alamin....

PFRNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fatika

NIM : 14620093

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Jeringau (*Acorus calamus*), Temu Mangga (*Curcuma mangga*), dan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Uterus Tikus Putih Betina (*Ratus novergicus*) Induksi Cisplatin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 Juni 2021

Yang membuat pernyataan



Fatika

NIM. 14620093

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Jeringau (*Acorus calamus*), Temu Mangga (*Curcuma mangga*), dan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Uterus Tikus Putih Betina (*Ratus novvergicus*) Induksi Cisplatin

Fatika, Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Kesehatan reproduksi merupakan kesehatan berupa mental, sosial maupun fisik, bukan hanya karena tidak adanya penyakit maupun kelemahan, namun juga semua hal yang berhubungan dengan sisten reproduksi dan proses-proses serta fungsi-fungsinya. Penyebab dari terjadinya infertilitas karena faktor perempuan dengan prosentase 30% yang diakibatkan masalah uterus, serviks, vagina, kelainan pada tuba fallopi, ovarium dan peritoneum. Sekitar 30% dari laki-laki itu sendiri dan adanya masalah pada keduanya 30% serta karena faktor yang tidak diketahui sekitar 10%. Bahan yang terkenal dapat menyembuhkan masalah infertilitas adalah rimpang jeringau (*Acorus calamus*), temu mangga (*Curcuma mangga*) dan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) sebagai bahan obat tradisional etnis Madura yaitu jamu “Subur Kandungan” penelitian ini menjadi langkah awal untuk mengetahui reseptor estrogen pada uterus yang terpapar obat Cisplatin. Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental dengan 7 perlakuan dan 4 kali ulangan. Sampel diekstrak dengan kombinasi jeringau, temu mangga, dan bawang putih metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penyerataan siklus estrus dengan injeksi hormone PMSG dan hCG. Apusan vagina dilakukan setiap hari pada pagi dan sore. Penentuan dosis Cisplatin mengacu pada sediaan obat Cisplatin. Penentuan dosis jamu mengacu pada aturan minum jamu subur kandungan. Penentuan dosis Kломifen Sitrat mengacu pada aturan minum obat Blesifen. Tikus putih dimodel infertil dengan pemberian Cisplatin secara injeksi intraperitoneal. Pengambilan sampel uterus dilakukan dengan pembedahan pada tikus. Uji immunohistokimia dengan menggunakan pewarnaan immunohistokimia. Hasil dari perwarnaan immunohistokimia dari 7 perlakuan, perlakuan kontrol negatif inti sel yang tidak berwarna coklat , perlakuan control positif tidak banyak warna coklat pada sel yang terlihat, kelompok 3 dengan perlakuan 1 terlihat banyak sel yang berwarna coklat dan sedikit yang berwarna biru, kelompok 4 dengan perlakuan 2 terlihat sudah banyak warna coklat pada sel tersbut dan sangat sedikit sel yang berwarna biru, kelompok 5 perlakuan 3 elihat banyak sekali sel yang berwarna biru dan hampir semua berwarna biru sedangkan sel yang berwarna coklat sebagian, kelompok 6 perlakuan 4 sebagian sel berwarna biru dan didominasi oleh warna coklat, perlakuan control tidak adanya sel berwarna coklat.

Kata Kunci: Infertil, Jamu, Reseptor Estrogen

Effect of Giving Extracts of Jeringau (*Acorus calamus*), Temu Mangga (*Curcuma mangga*), and Garlic (*Allium sativum* Linn.) on Uterine Estrogen Receptor Expression of Female White Rats (*Ratus norvegicus*) Cisplatin Induction Fatika,

Bayyinatul Muchtaromah, Mujahidin Ahmad

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Reproductive health is health in the form of mental, social and physical, not only because of the absence of disease or weakness, but also all matters related to the reproductive system and its processes and functions. The cause of infertility due to female factors with a percentage of 30% caused by problems with the uterus, cervix, vagina, abnormalities in the fallopian tubes, ovaries and peritoneum. About 30% of the men themselves and the presence of problems in both 30% and due to unknown factors about 10%. Materials that are known to cure infertility problems are jeringau rhizome (*Acorus calamus*), Intersection mango (*Curcuma mango*) and garlic (*Allium sativum* Linn.) estrogen in the uterus exposed to the drug Cisplatin. This study used an experimental study with 7 treatments and 4 replications. Samples were extracted with a combination of jeringau, Intersection of mango, and garlic using maceration method using 70% ethanol as solvent. Equalization of the estrus cycle by injection of PMSG and hCG hormones. Vaginal swabs were performed daily in the morning and evening. Cisplatin dosage determination refers to the Cisplatin drug preparation. Determination of the dose of herbal medicine refers to the rules for drinking herbal fertile content. Determination of the dose of Clomiphene Citrate refers to the rules for taking the drug Blesifen. White rats were modeled as infertile by administering Cisplatin by intraperitoneal injection. Uterine sampling was performed surgically on mice. Immunohistochemical test using immunohistochemical staining. The results of the immunohistochemical staining of 7 treatments, the negative control treatment of the cell nucleus that was not brown, the positive control treatment not much brown in the visible cells, group 3 with treatment 1 saw a lot of brown cells and few blue ones, group 4 with Treatment 2 saw a lot of brown color in these cells and very few cells were blue, group 5 treatment 3 saw a lot of blue cells and almost all of them were blue while the cells were partially brown, group 6 treatment 4 some cells were blue and dominated by brown color, control treatment did not have brown cells sel .

Keywords: Infertile, Herbs, Estrogen Receptors

مستخلص البحث

فاتيكيا. 2021. تأثير إعطاء مستخلصات الجرينجاو (*Acorus calamus*)، *Temu Mango (Curcuma mangga)*، والثوم (*Allium sativum Linn*). على تعبير مستقبلات الأستروجين الرحمية لإنثا الجرذان البيضاء (*Ratus novgicus*) (تحريض *Cislatin*)
المشريف في علم الأحياء: روري ستي ريسميساري الماجستر.
المشريف في علم الدين: مجاهدين أحمد الماجستر.

الكلمات الرئيسية: ، عقم ، أعشاب ، Reseptor Estrogen.

الصحة الإنجابية هي الصحة في صورة عقلية واجتماعية وجسدية ، ليس فقط بسبب عدم وجود مرض أو ضعف ، ولكن أيضا لكل ما يتعلق بالجهاز التناسلي وعملياته ووظائفه. يعود سبب العقم إلى عوامل أنثوية بنسبة 30% ناتجة عن مشاكل في الرحم وعنق الرحم والمهبل وتشوهات في قناة فالوب والمبيض والصفاق. حوالي 30% من الرجال أنفسهم ووجود مشاكل في كل من 30% وبسبب عوامل غير معروفة حوالي 10%. المواد المعروفة بعلاج مشاكل العقم هي جذور الجرينجاو (*Acorus calamus*) وتقاطع المانجو *Curcuma mangga* (الثوم *Allium*)

sativum Linn. (وهرمون الاستروجين في الرحم المعرضين لعقار سيسبالتين. استخدمت هذه الدراسة دراسة تجريبية بـ 7 معالجات و 4 مكررات. تم استخلاص العينات بمزيج من الجرينجاو وتقاطع المانجو والثوم باستخدام طريقة النقع باستخدام 70% من الإيثانول كمذيب. معادلة دورة الشبق عن طريق حقن هرمونات PMSG و hCG. يتم إجراء المسحات المهبيلة يوميا في الصباح والمساء. يشير تحديد جرعة سيسبالتين إلى تحضير عقار سيسبالتين. يشير تحديد جرعة الأدوية العشبية إلى قواعد شرب المحتوى العشبي الخصب. يشير تحديد جرعة عقار كلوميفين سيتترات إلى قواعد تناول عقار بليسيفين. تم تصميم الفئران البيضاء على أنها عقيمة عن طريق إعطاء سيسبالتين عن طريق الحقن داخل الصفاق. تم إجراء أخذ عينات الرحم جراحيا على الفئران. اختبار كيميائي مناعي باستخدام التلوين المناعي. نتائج التلوين الكيميائي الهستوكيميائي المناعي لـ 7 عالجات ، عالج التحكم السلبي لنواة الخلية التي لم تكن بنية ، عالج التحكم الإيجابي ليس لونا بنيا كثيرا في الخلايا المرئية ، المجموعة 3 مع العالج 1 شهدت الكثير من الخلايا البنية والقليل من اللون الأزرق ، المجموعة 4 مع العالج 2 شهدت الكثير من اللون البني في هذه الخلايا وقليل جدا من الخلايا كانت زرقاء ، المجموعة 5 المعاملة 3 شهدت الكثير من الخلايا الزرقاء وكلها تقريبا كانت زرقاء بينما الخلايا كانت بنية جزئيا ، المجموعة 6 المعاملة 4 كانت بعض الخلايا زرقاء ويغلب عليها اللون البني ، ولم يكن لدى معاملة التحكم خاليا بنية اللون.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Jeringau (*Acorus calamus*), Temu Mangga (*Curcuma mangga*), dan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Uterus Tikus Putih Betina (*Ratus novergicus*) Induksi Cisplatin” dengan baik. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah.

Keberhasilan penulisan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, arahan, dan bantuan dari berbagai pihak, baik berupa pikiran, motivasi, tenaga, maupun do’a. Karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P, selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, Prof. Retno Susilowati, M.Si, Kholifah Holil, M.Si dan Mujahidin Ahmad, M. Sc, selaku dosen pembimbing biologi dan agama yang telah banyak memberikan pengarahan, pengalaman berharga, membimbing penulis menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi.
5. Segenap civitas akademika Program Studi Biologi, terutama seluruh dosen terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak terutama dalam pengembangan ilmu biologi di bidang terapan. Aamiin

Malang, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO	3
HALAMAN PERSEMBAHAN	4
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	5
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	6
ABSTRAK	7
ABSTRACT	8
تذكرة بلا صلوات اسم	9
KATA PENGANTAR	10
DAFTAR ISI.....	11
DAFTAR LAMPIRAN
BAB I	13
PENDAHULUAN	13
1.1 Latar Belakang	13
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Hipotesis	11
1.4 Tujuan	231
1.5 Manfaat	231
1.6 Batasan Masalah	231
BAB II	13
TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Deskripsi Tumbuhan Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	13
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	13
2.1.2 Kandungan Kimia Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	14
2.1.3 Khasiat Rimpang Jeringau (<i>Acorus calamus</i>)	155
2.2 Deskripsi Tumbuhan Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	155
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	156
2.2.2 Kandungan Kimia Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	177
2.2.3 Khasiat Temu Mangga (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	18
2.3 Deskripsi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn.)	18
2.3.1 Klasifikasi Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn.	18
2.3.2 Kandungan Kimia Tumbuhan Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn.)	19
2.3.3 Khasiat Tumbuhan Bawang Putih (<i>Allium sativum</i> Linn.)	200
2.4 Ekstraksi	200
2.5 Hormon Reproduksi pada Betina	210
2.6 Cisplatin	233
2.6.1 Mekanisme Kerja Cisplatin	233
2.6.2 Efek samping <i>Cisplatin</i>	244
2.7 Organ Reproduksi Uterus	24
2.8 Reseptor Estrogen Uterus	26

2.9 Tinjauan tentang Imunohistokimia.....	28
BAB III	33
METODE PENELITIAN	33
3.1 Rancangan Penelitian	33
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian	33
3.3 Variabel Penelitian	34
3.3.1 Variabel Bebas.....	34
3.3.2 Variabel Terikat	35
3.3.3 Variabel Kontrol	35
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.5 Alat dan Bahan	355
3.5.1 Alat Penelitian	355
3.5.2 Bahan Penelitian	36
3.6. Kegiatan Penelitian	366
3.6.1 Persiapan Hewan Coba	366
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	366
3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan Jeringau, Temu Mangga dan Bawang Putih	377
3.6.4 Ekstraksi Simplisia Jeringau, Temu Mangga dan Bawang Putih dengan Metode Maserasi	38
3.6.5 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%	38
3.6.6 Penyerentakan Siklus Birahi.....	38
3.6.7 Penentuan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina	39
3.6.8 Penentuan Dosis Cisplatin	39
3.6.9 Penentuan Dosis Perlakuan	40
3.6.10 Penentuan Dosis Kломифen Sitrat	40
3.6.11 Pemberian Perlakuan	41
3.7 Teknik Pengambilan Data	411
3.7.1 Pengambilan Organ Uterus.....	411
3.7.2 Pembuatan Preparat Uterus dengan Pewarnaan Imunohistokimia	422
3.7.3 Pengamatan Histologi Uterus	43
3.8 Analisis Data	444
BAB IV.....	45
HASIL DAN PEMBAHASAN	49
PENUTUP	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	533

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan reproduksi ialah kesehatan berupa mental, sosial maupun fisik, bukan hanya karena tidak adanya penyakit maupun kelemahan, namun juga semua hal yang berhubungan dengan sistem reproduksi dan proses-proses serta fungsi-fungsinya (Harahap, 2003). Sistem reproduksi pada manusia sangat mudah terserang terhadap macam-macam penyakit kelainan, dan juga beberapa faktor yang dapat mengganggu sistem reproduksi. Bisa karena bakteri, tumor, virus atau karena tidak berfungsinya organ reproduksi yang disebabkan karena sesuatu yang tidak diketahui, seperti zat kimia yang masuk ke dalam tubuh manusia atau makanan (Revina & Susi, 2014).

Salah satu gangguan organ reproduksi pada manusia khususnya pada perempuan yaitu infertilitas. Infertilitas adalah suatu keadaan dimana seorang istri yang tidak mengalami kehamilan meskipun telah berhubungan seksual tanpa alat kontrasepsi secara rutin dengan suami selama satu tahun (Depkes, 2006). Pendapat lain oleh Rouphe *et al.*, (2009) menyatakan bahwa infertilitas adalah ketidakmampuan seorang istri untuk hamil, dimana istri tersebut telah berusaha hamil selama 6 bulan atau lebih, istri yang berusia 35 tahun lebih, dan tidak menggunakan alat kontrol kelahiran serta mempunyai hubungan seksual yang normal.

Penyebab dari terjadinya infertilitas karena faktor perempuan dengan prosentase 30% yang diakibatkan masalah uterus, serviks, vagina, kelainan pada tuba fallopi, ovarium dan peritoneum. Sekitar 30% dari laki-laki itu sendiri dan adanya masalah pada keduanya 30% serta karena faktor yang tidak diketahui sekitar 10% (Badan Pusat Statistik, 2010).

Pendapat lain menjelaskan bahwa infertilitas juga lebih banyak dialami oleh wanita yaitu 12,5% dibandingkan pria yaitu 10,1% (Hadibroto, 2013). Menurut Aizid (2012), data sensus penduduk menunjukkan bahwa terdapat 12% atau sekitar 3 juta pasangan infertil baik di desa maupun di kota yang menyebar di seluruh Indonesia, yang mana dari jumlah tersebut tercatat wanita yang mengalami infertil 15% di umur 30-34, dan 30 % di umur 35-39, serta 64% di umur 40-44 tahun. Berdasarkan data tersebut, dapat dinyatakan bahwa terjadinya infertilitas disebabkan dari faktor wanita sebanyak 40%, dari faktor pria 40%, faktor dari keduanya 10%, dan tidak diketahui penyebabnya 10%.

Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan wanita mengalami masalah infertilitas di antaranya adanya gangguan kesehatan atau disfungsi pada organ reproduksi seperti vagina, oviduk, ovarium, uterus dan serviks, serta diakibatkan dari berbagai gaya hidup modern seperti menikah pada umur rata-rata yang lebih tinggi, pola hidup yang tidak sehat stress, intensitas olahraga yang berlebihan, lingkungan yang kurang baik dan efek psikologis lain (Roupa *et al.*, 2009). Menurut Aprilia (2015), gaya hidup yang buruk dapat mengakibatkan terjadinya stress oksidatif dikarenakan produksi dari radikal bebas atau ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang berlebihan. Adanya radikal bebas berlebih dalam tubuh ini dapat menyebabkan kerusakan sel-sel pada organ reproduksi sehingga mengganggu fungsi normalnya.

Salah satu agar menjadi infertil yaitu pemberian obat *Cisplatin*, *Cisplatin* merupakan obat anti kanker namun apabila pemberian dosis yang berlebihan akan mengakibatkan kerusakan organ. Hal tersebut dijelaskan oleh (Florea, 2011) bahwa *Cisplatin* (cis-diamminedichloroplatinum (II), CDDP) merupakan salah satu obat antineoplastik sangat berpotensi dan para dokter sering menggunakan obat tersebut untuk

obat kemoterapi kanker. Penggunaan *cisplatin* secara klinis terbukti berhasil memberikan perkiraan yang lebih baik dan menurunkan tingkat kematian pasien kanker. Tingkat keberhasilan kemoterapi *cisplatin* setara dengan dosis *cisplatin* yang diberikan. Namun semakin besar dosis *cisplatin* yang diberikan, maka semakin berat pula efek samping utama *cisplatin* yaitu nefrotoksisitas. Menurut (Bagus, 2012) mekanisme kerja Cisplatin melalui perusakan DNA yang akan menyebabkan terhentinya proses apoptosis dan siklus sel.

Untuk mengembalikan ataupun mengobati infertil menjadi subur yaitu dengan berbagai pengobatan diantaranya melalui terapi dengan obat-obatan sintetis dan teknologi reproduksi bantuan (*Assisted Reproduction Technology*) atau *In vitro fertilization* (IVF) serta melalui operasi. Akan tetapi, hal ini juga belum tentu menjamin keberhasilan untuk mendapatkan kehamilan dan kelahiran bayi dalam keadaan hidup. Ditambah lagi dengan tingginya biaya yang dibutuhkan untuk proses IVF dan efek samping dari penggunaan obat-obatan kimia (Delosantos, 2012).

Oleh karena itu, masyarakat saat ini lebih cenderung kembali ke alam (*back to nature*) untuk memanfaatkan berbagai tumbuh-tumbuhan di alam sebagai bahan pengobatan terhadap gangguan reproduksi (Dewoto, 2007). Fakta tersebut juga diperkuat oleh data WHO bahwa sekarang ini sekitar 80% orang di dunia menggunakan tanaman herbal untuk memelihara kesehatannya (Wulandari, 2001). Selain itu, secara umum penggunaan obat tradisional dari tumbuh-tumbuhan dinilai lebih aman karena efek samping yang kemungkinan akan menimbulkan efek samping yang relatif kecil daripada penggunaan obat modern dan tentunya relatif murah.

WHO menyarankan untuk mengkonsumsi obat herbal untuk memelihara kesehatan masyarakat, melalui pencegahan dan sebagai pengobatan penyakit kronis, penyakit degeneratif. WHO juga sangat mendukung dalam meningkatkan keamanan pembuatan obat tradisional (WHO, 2003).

Hal tersebut kemungkinan dapat ditemukan di Indonesia karena menurut Wulansari dan Chairul (2011) Indonesia merupakan salah satu dari beberapa negara yang disebut dengan negara tropis dimana Indonesia memiliki keanekaragaman tumbuhan tertinggi kedua setelah Brazil. Keanekaragaman tumbuhan di Indonesia diperkirakan mencapai 25.000 jenis dan dari jumlah tersebut sebanyak 9.606 jenis adalah tumbuhan herbal. Pendapat lain menurut Hidayat (2006) menjelaskan bahwa Indonesia memiliki banyak jenis tumbuhan yang kurang lebih 30 ribu jenis dari 40 ribu jenis tumbuhan yang ada di dunia. Ada sekitar 26% tumbuhan sudah dibudidaya, dan sekitar 74% tumbuhan masih tumbuh secara liar di hutan-hiutan. Sekitar 8000 lebih jenis tumbuhan merupakan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat, dan hanya 800-1200 jenis tumbuhan yang sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional atau jamu.

Allah juga telah menjelaskan dalam Surat Asy Syu'ara' ayat 7 bahwa Allah Ta'ala menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan di bumi ini adalah untuk memenuhi kebutuhan hidup manusia tidak hanya sebatas sebagai sumber makanan dan minuman, namun juga sebagai bahan obat yang berbunyi



*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai **macam tumbuh-tumbuhan yang baik** ? 8. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman”*

Berdasarkan tafsir Jalalain, kata “**كَيْرٍ**” (yang baik) antara lain digunakan untuk mensifati suatu objek dengan arti yang baik, dalam hal ini adalah kata “

”(tumbuh-tumbuhan). Jadi, kata tersebut berfungsi untuk menjelaskan yang dimaksud dengan tumbuh-tumbuhan yang baik adalah tumbuh-tumbuhan yang dapat

bermanfaat bagi manusia dan tidak bersifat merugikan, termasuk di dalamnya adalah dapat dimanfaatkan untuk bahan pengobatan dalam mengatasi masalah infertilitas (Al-Mahally, 1990).

Ayat di atas menunjukkan bahwa Allah telah menumbuhkan berbagai macam tanaman yang diciptakan tidak dengan sia-sia. Indonesia memiliki keragaman tanaman yang tumbuh di setiap daerah.

Beberapa tumbuhan yang memiliki potensi sebagai bahan pengobatan infertilitas adalah jeringau temu mangga (*Curcuma mangga* Val), (*Acorus calamus* L) dan bawang putih (*Allium sativum* L). Ketiga tumbuhan tersebut telah dipercaya oleh masyarakat Madura sebagai penyusun utama ramuan jamu subur kandungan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi gangguan infertilitas.

Adanya aktivitas antioksidan dan antifungi dari ketiga tumbuhan tersebut dianggap menjadi faktor penting untuk meningkatkan fertilitas. Hal ini dibuktikan pada penelitian Ahmad (2015) yang menyatakan bahwa kontribusi tingginya aktivitas antioksidan jamu subur kandungan dimungkinkan berasal dari bawang putih yang berdasar uji DPPH memiliki nilai IC_{50} 383.56 $\mu\text{g/mL}$, selanjutnya jeringau yang memiliki nilai IC_{50} 335.67 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} temu mangga adalah 32.482 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian Afifah (2015) juga memaparkan bahwa kombinasi ekstrak etanol bawang putih, jeringau dan temu mangga mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi pada konsentrasi 200 ppm dan antifungi *Candida albicans* secara *in vitro*. Tingginya aktivitas antioksidan pada kombinasi ketiga tumbuhan tersebut memungkinkan adanya perbaikan pada kerusakan sel penyusun organ reproduksi untuk meningkatkan fertilitas.

Berdasarkan penelitian Azzahra (2015), uji senyawa fitokimia yang terdapat dalam kombinasi ketiga tanaman tersebut dengan metode KLT ekstrak etanol 70%, menunjukkan bahwa bawang putih terbukti mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid, jeringau mengandung senyawa triterpenoid, flavonoid dan alkaloid selanjutnya temu mangga terbukti mengandung senyawa alkaloid dan triterpenoid. Menurut Nurhuda *et al.* (1995), berbagai senyawa bioaktif pada tumbuhan, khususnya kelompok senyawa-senyawa isoflavonoid, alkaloid, steroid dan triterpenoid memiliki khasiat sebagai bahan peningkat fertilitas. Senyawa aktif yang terkandung pada ketiga kombinasi tumbuhan tersebut memungkinkan bekerja saling melengkapi dan bekerja sama secara dinamis dan bahkan menambah daya khasiatnya untuk menghasilkan efek terapi dengan efek samping minimal dalam mengatasi gangguan reproduksi.

Salah satu organ reproduksi yang erat kaitanya dengan masalah infertilitas yaitu uterus. Uterus adalah organ reproduksi wanita yang mempunyai peranan utama sebagai tempat perkembangan sebuah janin yang terbentuk dari hasil pembuahan ovum oleh sperma sampai waktunya untuk dilahirkan ke dunia (Partodihardjo, 1988).

Adanya gangguan atau disfungsi pada uterus akan mempengaruhi implantasi embrio sehingga dapat menyebabkan infertilitas. Gangguan infertilitas ini dapat dilihat melalui struktur mikroanatomi uterus berdasarkan indikator tebal tipisnya lapisan penyusun dinding uterus yaitu, endometrium, miometrium, perimetrium dan perkembangan kelenjar endometrium serta tingkat ekspresi reseptor estrogen melalui pewarnaan imunohistokimia.

Yatim (1994) menjelaskan bahwa struktur dan fungsi dari uterus, berhubungan dengan aktivitas hormon estrogen dan progesteron ovarium, sehingga perubahan yang

terjadi pada endometrium ini terkait dengan respon terhadap perubahan hormon, stromal, dan vascular yang tujuan akhirnya adalah menyiapkan uterus untuk proses nidasi dan pembentukan plasenta kalau nanti terjadi pembuahan. Baziad (2003) menyatakan bahwa rendahnya kadar estrogen dalam darah wanita pada kondisi infertilitas menyebabkan menipisnya lapisan penyusun dinding uterus dan menurunnya jumlah kelenjar endometrium, akibatnya uterus tidak mampu menjalankan fungsinya ketika terjadi kehamilan. Kadar estrogen yang rendah memicu terjadinya ketebalan endometrium berkurang menjadi < 5 mm, dinding pembuluh darah menjadi tipis dan rapuh dan atropi pada endometrium.

Tipisnya lapisan dinding penyusun uterus pada kondisi infertil dapat terjadi akibat berkurangnya aktivitas biologi estrogen yang dimediasi reseptor estrogen (ER) untuk menginduksi proliferasi sel penyusun organ uterus dalam jumlah kelenjar endometrium meningkatkan tebal lapisan endometrium dan miometrium. Maka dari itu, dapat dikatakan bahwa tinggi rendahnya tingkat ekspresi reseptor estrogen saling berkorelasi dengan kadar estrogen dalam darah. Hal ini sebagaimana menurut Arina (2008), bahwa banyaknya reseptor hormon dipengaruhi oleh konsentrasi hormon di ruang interseluler. Estrogen dapat mempengaruhi ekspresi reseptor estrogen melalui peningkatan aktivitas pada regio promoter gennya. Akan tetapi, belum diketahui apakah seluruh promoter lainnya juga dipengaruhi estrogen. Penelitian Ing (1997) juga menerangkan bahwa hormon steroid seks mengkoordinasikan proses reproduksi dengan mengatur ekspresi gen melalui protein reseptor spesifik dalam sel target. Selanjutnya, hasil penelitian Nephew (2007) menunjukkan bahwa regulasi ekspresi ER oleh estrogen telah dilaporkan di uterus

tikus, tergantung pada kondisi fisiologis hewan dan sistem eksperimental yang digunakan.

Menurut Winuthayanon (2010) terdapat dua jenis reseptor estrogen yaitu ER alpha dan beta (α dan β) yang didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh. ER α secara dominan diekspresikan di uterus, kelenjar mammae, hipofisis, hipotalamus, dan sel teka ovarium, sedangkan ER β terutama pada sel granulosa ovarium, paru-paru dan prostat. Uterus adalah jaringan target utama estrogen yang memiliki ER α yang terdistribusi pada kelenjar epitelium, stroma, endometrium dan miometrium. Tingkat ekspresi ER α juga bervariasi selama siklus estrus karena menyesuaikan dengan fluktuasi estrogen.

Estrogen memiliki peranan yang sangat penting dalam siklus reproduksi. Hal ini dikarenakan aktivitas estrogenik hormon estrogen dapat mempengaruhi tingkat fertilitas melalui interaksi pengikatan dengan reseptor hormon sehingga mampu menimbulkan efek fisiologis pada sel target. Penelitian terdahulu memaparkan bahwa fitoestrogen yang terkandung dalam kombinasi ekstrak bawang putih, jeringau dan temu mangga memiliki efek estrogenik yang dapat memicu aktivitas proliferasi pada sel penyusun dinding uterus. Oleh karena itu, analisis tingkat ekspresi reseptor estrogen uterus untuk menentukan status reproduksi tikus betina infertil setelah diberi paparan kombinasi ketiga ekstrak tumbuhan tersebut.

Fitoestrogen merupakan senyawa yang memiliki rumus kimia yang sama persis dengan estrogen alami tubuh (Sitasiwi, 2008). Aktivitas proliferasi yang terjadi pada uterus sebagai efek setelah pemberian senyawa fitoestrogen yaitu melalui beberapa mekanisme yang diterangkan oleh Cooke, *et al* (1998) yaitu dengan cara fitoestrogen akan menempati reseptor hormon estrogen dan membentuk kompleks ikatan, sehingga terjadi

transkripsi mRNA dan translasi untuk menghasilkan protein pengeksresi proliferasi sel. Hal ini kemudian akan meningkatkan jumlah kelenjar endometrium, ketebalan lapisan endometrium, myometrium dan perimetrium serta ekspresi reseptor estrogen uterus.

Penelitian Ariyanti (2016) menunjukkan bahwa bawang putih memiliki kandungan fitoestrogen sebesar 603,6 per 100 gram. Beberapa kandungan fitoestrogen yang ditemukan pada bawang putih berdasarkan penelitian Lilian *et al.* (2006) di antaranya *genistein*, *secoisolariciresinol*, *glycitein*, *formononetin*, *coumestrol*, *pinoresinol*, *lariciresinol*, *daidzein* dan *matairesinol*. Selanjutnya, hasil penelitian Yusmalasari (2017) juga menjelaskan bahwa kandungan senyawa fitoestrogen isoflavon yang terdapat dalam kombinasi ekstrak etanol bawang putih, jeringau dan temu mangga dapat menghasilkan kenaikan kadar estrogen maupun progesteron dibandingkan pada tikus normal tanpa perlakuan (kontrol negatif).

Pemahaman tentang reproduksi secara menyeluruh dan mendalam merupakan pengetahuan awal untuk dapat mengatasi masalah infertilitas. Fertilitas sangat berhubungan dengan fluktuasi hormon yang kemudian akan mempengaruhi struktur mikroanatomi uterus. Berdasarkan penjelasan di atas, maka perlu melakukan penelitian lebih lanjut tentang efek kombinasi ekstrak bawang putih, jeringau dan temu mangga terhadap ekspresi reseptor estrogen uterus tikus infertil. Sehingga, penelitian ini dapat menjadi langkah awal untuk nantinya pengobatan tradisional diterima kembali dalam sistem pengobatan modern serta dapat meningkatkan kesehatan masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu apakah terdapat efek kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga

(*Curcuma mangga* Val) terhadap ekspresi reseptor estrogen uterus tikus (*Rattus noervegicus*) infertil?

1.3 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu terdapat efek kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga (*Curcuma mangga* Val) terhadap ekspresi reseptor estrogen uterus tikus (*Rattus noervegicus*) infertil.

1.4 Tujuan

Tujuan pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui ada atau tidaknya efek kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga (*Curcuma mangga* Val) terhadap ekspresi reseptor estrogen uterus tikus (*Rattus noervegicus*) infertil.

1.5 Manfaat

Manfaat pada penelitian ini di antaranya:

1. Manfaat penelitian secara teoritis adalah untuk memberikan informasi ilmiah mengenai ekspresi reseptor estrogen uterus tikus (*Rattus norvegicus*) infertil setelah pemberian kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* Linn), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga (*Curcuma mangga* Val).
2. Manfaat penelitian secara aplikatif adalah diharapkan hasil dari penelitian ini dapat menjadi acuan untuk menemukan dosis kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga (*Curcuma mangga* Val) yang tepat bagi manusia dalam mengatasi masalah infertilitas.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini di antaranya:

1. Proses ekstraksi sampel tumbuhan menggunakan metode maserasi.
2. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol p.a 70%.
3. Sampel tumbuhan yang digunakan adalah umbi bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L), dan rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.) yang berasal dari UPT Materia Medika Batu.
4. Komposisi bahan mengacu pada ramuan jamu subur kandungan.
5. Metode pewarnaan imunohistokimia terhadap reseptor estrogen uterus menggunakan metode pewarnaan tidak langsung (*indirect*)
6. Parameter penelitian adalah tingkat ekspresi reseptor alfa estrogen uterus tikus putih infertil

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus*)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus*)



Gambar 2.1 Tumbuhan Jeringau (*Acorus calamus*)

Klasifikasi tumbuhan jeringau adalah sebagai berikut (Vann Steenis, 2008) :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisi	: Spermathophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Devisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Arales
Suku	: Araceae
Marga	: Acorus
Species	: <i>Acorus calamus</i> L.

Jeringau adalah tanaman herbal yang tumbuh menahun tingginya mencapai 75 cm. Hidup di tempat yang lembab. Memiliki batang yang basah dan pendek, berbentuk

rimpang, dan berwarna putih kecoklatan. Daunnya tunggal, membentuk lancet, dan daunnya runcing, tepi daun rata, panjang daun 60 cm, lebar 5cm dan berwarna hijau. Ujung bunga meruncing, panjang bunga 20 sampai 25 cm di ketiak daun dan bunga berwarna putih, bunga majemuk berbentuk bonggol. Perbanyakkan melalui rimpang, stek batang atau dengan tunas-tunas yang muncul dari buku-buku rimpang dan akar berbentuk serabut (Kardinan, 2004).

2.1.2 Kandungan Kimia Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*)

Ekstrak rimpang jeringau menggunakan pelarut etanol p.a positif yang mengandung senyawa dari golongan triterpenoid dan alkaloid (Azzahra, 2015). Sedangkan ekstrak rimpang jeringau dengan pelarut kloroform p.a zat aktif yang terkandung hanya triterpenoid dan untuk ekstrak rimpang jeringau menggunakan n-heksana p.a sama dengan hasil uji pada ekstrak etanol p.a yaitu positif mengandung triterpenoid dan alkaloid. Tanaman jeringau mengandung bahan aktif seperti saponin, fenol, flavonoid, tannin, alkaloid, lecitin, triterpenoid, karbohidrat, dan getah (Aqil, 2007).

Jeringau memiliki kandungan yang khas yakni minyak asaron. Minyak asaron yang terdiri dari α -asarone dan β -asarone. β -asarone (isoasarone) dalam jeringau memiliki komponen yang paling banyak sekitar 90-96% (Effendi, 2014). Kandungan kimia yang lain dalam jeringau seperti tannin, calamin, calamenenol, flavonoid, sesquiterpen, terpenoid, acoretin, glukosida acorin ($C_{36}H_{60}O_6$), cholin dan alkaloid (Hendrajaya, 2003).

Selain terdapat zat aktif, jeringau memiliki aktivitas biologi yang telah diuji yaitu aktivitas antioksidan, antifungi, antibakteri, antihepatotoksik, antihiperlipidema, antiproliferasi, dan penghambatan terhadap FeCl yang menginduksi epileptogenesis pada

tikus,. Kandungan rimpang jeringau yaitu lender, minyak atsiri, glukosa, kalium oksalat resin, sterol, dan tannin. (Padua, 1999; Sa'roni, 2002).

2.1.3 Khasiat Rimpang Jeringau (*Acorus calamus*)

Rimpang jeringau dapat mengobati demam berdarah (DBD), cacingan, diare, disentri, dan penyakit asma. Secara tradisional tanaman jeringau sering digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, antiinflamasi, meredakan hidung tersumbat, dan antiseptik (Pakasi dan Salaki, 2013). Selain itu, manfaat dari rimpang jeringau yaitu sebagai obat penenang dan pengusir serangga.

2.2 Deskripsi Tumbuhan Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)



Gambar 2.2 Tumbuhan Temu Mangga *Curcuma mangga*

Klasifikasi tumbuhan temu mangga adalah sebagai berikut (Vann Steenis, 2008)

:

Kingdom Sub	: Plantae
Kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta

Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Spesies	: <i>Curcuma mangga</i> Val.

Sinonim : Madura: Temu pao, Sunda : Koneng joho (Hariana, 2008), Inggris : Mango ginger (Aggarwal, 2007).

Tanaman temu mangga termasuk golongan semak-semak yang memiliki ketinggian sekitar 1-2 m. Batang temu manga membentuk rimpang hijau yang masuk ke dalam tanah, pertulangan daun menyirip dan berwarna hijau, daun tunggal, akar serabut berwarna putih (Hutapea, 1993). Rimpang temu mangga memiliki rasa manis, beraroma mangga segar atau kweni dan sedikit pahit. Pada saat kondisi kering kulit rimpang temu manga berwarna putih kekuningan (Sudewo, 2004).

Temu mangga mudah ditemukan di wilayah sekitar ekuatorial lainnya seperti Malaysia (temu pauh) dan Thailand (kha min khao). Ciri khusus temu mangga yaitu umbi temu manga memiliki warna kuning dan bintik-bintik mirip jahe, berbau yang khas seperti bau mangga. (Tedjo et.al., 2005).

Perkembangbiakan tanaman temu manga ialah melalui rimpang atau anakan rimpang yang sudah memiliki umur kira-kira 9 bulan. Ketika rimpang muda dikembangkan akan sangat mudah terkena penyakit. Temu mangga mudah tumbuh dengan subur ketika ditanami dalam tanah yang gembur mengandung banyak bahan organik tinggi dan mendapatkan paparan sinar matahari yang cukup (Sudewo, 2006).

Dapat tumbuh di dataran rendah mencapai 1000 m di atas permukaan laut, dan ketinggian optimal temu mangga 300-500 m dan apabila di suatu wilayah memiliki curah hujan 1000 – 2000 mm sangat cocok untuk budidaya temu mangga (Gusmaini *et.al.*, 2004).

2.2.2 Kandungan Kimia Temu Mangga (*Curcuma mangga Val.*)

Temu mangga memiliki banyak kandungan kimia seperti kurkumin, damar, amilum, minyak atsiri, gula, tanin, saponin dan flovanioid serta protein toksik yang dapat menghambat perkembangbiakan sel kanker. Khasiat yang dimiliki temu mangga yaitu dapat menurunkan panas (antipiretik), antioksidan, menangkal racun (antitoksik) dan pencahar (laksatif) (Hariana, 2006).

Di dalam daun temu mangga dan rimpang terkandung flavonoid dan saponin, selain itu daun temu mangga mengandung polifenol (Hutapea, 1993). Kandungan senyawa antioksidan kurkuminoid juga dapat ditemukan pada temu mangga (Sudewo, 2004). Amilum, dammar, gula, tanin, dan minyak atsiri (Darwis, dkk., 1991). Minyak atsiri dalam temu mangga yaitu dari golongan monoterpen hidrokarbon yang terdiri dari 4 komponen utama antara lain α -pinen (2,9%), β -pinen (3,7%), mirsen (78,6%) dan β -osimen (5,1%) (Wong, dkk., 1999) dan senyawa yang dapat memberikan bau seperti mangga adalah δ -3-karen dan (Z)- β -osimen (Hernani dan Suhirman, 2001). Komposisi kurkumin dalam temu mangga sekitar 6,2%, bisdemetoksikurkumin dan 3,0% demetoksikurkumin 2,3% (Susmiati, 2010).

Temu mangga memiliki senyawa fenolik yang dapat menginduksi aktifitas glutathione S-transferase (GST) atau suatu enzim yang berperan detoksifikasi senyawa asing di dalam tubuh, dan juga mampu menekan terjadinya stres oksidatif (Tedjo *et al.*, 2005 dalam Hendrikos *et al.*, 2014).

2.2.3 Khasiat Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.)

Senyawa flavonoid, polifenol dan kurkuminoid merupakan senyawa yang terkandung di dalam rimpang temu mangga dan dikenal sebagai senyawa antioksidan alami. Umumnya, temu mangga sering dikonsumsi untuk penambah nafsu makan, peradangan karena gangguan, wasir pengobatan nyeri lambung, dan untuk lemahnya syahwat, radang tenggorokan, pengobatan nyeri lambung, mengatasi gatal-gatal, menghambat pertumbuhan kanker, gatal-gatal, diare, bronkitis dan penangkal racun (Syukur, 2004).

Menurut Hendrikos (2014) menjelaskan bahwa temu mangga memiliki aktivitas antideabetes, antikanker (Yuandani, 2011), antihiperlipidemia (Silvia, 2008). Temu mangga berguna sebagai antioksidan, pencakar (laksatif), p penangkal racun (antitoksik) dan penurun panas(antipiretik). Khasiat lainnya untuk masuk angin, mengurangi lemak perut, luka, gatal-gatal (pruritis), mengecilkan rahim setelah melahirkan, menambah nafsu makan, radang saluran napas (bronkitis), demam, mengatasi sakit perut, kembung, dan sesak napas (asma) (Hariana, 2008; Rukmana, 2004). Beberapa manfaat temu mangga sebagai obat tradisional diantaranya adalah sebagai obat bisul, maag, penghilang nyeri saat haid, diare, dan mengobati jerawat keputihan (Tedjo et.al., 2005).

2.3 Deskripsi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)

2.3.1 Klasifikasi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)



Gambar 3.2 Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)

Klasifikasi bawang putih (*Allium sativum* Linn.) adalah sebagai berikut (Van Steenis, 2008):

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Liliales
Suku	: Liliaceae
Marga	: Allium
Spesies	: <i>Allium sativum</i> Linn.

Nama lain dari bawang putih (*Allium sativum*) yaitu bawang putih (Indonesia), bawang bodudo (Ternate), garlic (Inggris), lasuna pute (Bugis), bawang bodas (Sunda), bawang (Jawa), kasuna (Bali), bhabang pote (Madura), kalfeo foleu (Timor) bawang handak (Lampung) (Santoso, 2000).

Bawang putih adalah tanaman yang semusim dapat tumbuh tegak dan hidupnya berumpun. Bawang putih mudah tumbuh di seluruh dunia kira-kira 30-60 cm. Bawang putih memiliki cakram (batang tidak sempurna), akar, daun dan umbi (Suriana, 2011).

2.3.2 Kandungan Kimia Tumbuhan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)

Bawang putih memiliki kandungan zat yaitu dialil disulfida, alil propil disulfida, minyak atsiri antara 0,1% - 0,5%, dan senyawa sulfat organik lainnya. Bau bawang

ditimbulkan dari Allin (tidak berbau) pada hidrolisa (Kartasapoetra, 1992). Allin merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai antioksidan utama, dan juga dapat berperan penting lebih yaitu senyawa polar steroid dan fenolik dengan panas yang stabil dan sifat farmakologi tanpa bau (Gebreyohannes, 2013).

2.2.3 Khasiat Tumbuhan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.)

Menurut Majewski (2014) menyatakan bahwa bawang putih memiliki banyak manfaat yaitu sebagai pengobatan hipertensi, hiperkolesterol, diabetes, demam atau sebagai pencegahan *atherosclerosis*, dan sebagai penghambat tumbuhnya tumor. Pendapat lain dari Ebadi, (2006) menyatakan bahwa bawang putih juga memiliki manfaat sebagai antioksidan, antibakter, dan antifungi.

2.4 Ekstraksi

Maserasi adalah metode perendaman suatu sampel yang dibantu oleh pelarut pada temperatur ruangan. Keuntungan menggunakan proses tersebut karena membrane sel yang diakibatkan tekanan antara di luar dan di dalam sel menyebabkan metabolit sekunder di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut, dan sampel tumbuhan dapat mengalami pemecahan dinding selain itu agar didapatkan ekstraksi yang baik dapat diatur juga lama perendaman ekstrak tersebut. Dengan pemilihan pelarut untuk proses maserasi dapat memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut (Lenny, 2006).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan beberapa kali pengadukan atau pengocokan dengan menggunakan suhu ruang. Secara teknologi metode ini termasuk metode ekstraksi dengan menggunakan prinsip pencapaian keseimbangan konsentrasi (Ferdiansyah, 2006). Pemilihan metode ini karena metode tersebut mudah dikerjakan dan murah, dan juga dapat menjaga senyawa dari sampel tersebut.

Mengerjakan ekstraksi dengan maserasi biasanya dengan rasio 2 : 1 seperti 200 L pelarut dicampur dengan 100 kg sampel (Bernasconi, 1995) sedangkan menurut Yenie (2013) melakukan perendaman ekstrak dengan cara mencampurkan bahan dengan pelarut dengan perbandingan 4 : 1 yaitu 400 ml pelarut dan 100 g bahan baku, agar dapat ekstrak yang cepat dalam waktu yang singkat maka proses pengadukan menggunakan shaker dengan yang kekuatan 120 rpm selama 1 hari.

2.5 Hormon Reproduksi pada Betina

Fungsi reproduksi wanita terbagi menjadi dua tahapan utama, yaitu siapnya menerima konsepsi dan masa kehamilan. Siklus seksual wanita ada 2 yaitu, yaitu salah satu ovum matang yang normal dikeluarkan dari ovarium setiap bulan, kemudian kesiapan endometrium untuk implantasi ovum yang telah dibuahi (Guyton, 1997).

Mekanisme dasar hormon steroid memberikan efek estrogenik adalah melalui induksi sintesis protein baru pada sel target. Protein tersebut berupa molekul atau hormon lain untuk fungsi sel, seperti enzim. Protein yang telah disintesis mempertanggungjawabkan aktivitas hormon steroid (Heffner dan Schust, 2006).

kelenjar endokrin mensekresi hormon steroid sekitar 95-98%, kemudian akan dialirkan melalui aliran darah dan berikatan dengan protein transpor yang spesifik. Ketika di dalam sel terdapat steroid, steroid akan menghasilkan respon yang memiliki reseptor intraseluler spesifik untuk hormon tersebut. Pada jaringan target pengikatan reseptor spesifik adalah kunci kerja steroid. Maka dari itu, reseptor estrogen mudah ditemukan pada sel target yang spesifik dan untuk fungsi reproduksi wanita, seperti uterus dan payudara di otak (Heffner dan Schust, 2006).

Pada hewan betina, proses pembentukan siklus mudah diamati. Umumnya, mamalia betina mengalami estrus, namun mamalia pada primata mengalami siklus

menstruasi. Hormon gonadotropin merupakan hormon yang dapat mengatur siklus reproduksi yang terdiri dari FSH dan LH. Kelenjar pituitari bagian menghasilkan hormon LH dan FSH dan dari hipotalamus Gn-RH mengendalikan pengeluaran hormon (Isnaeni, 2006).

Hipotalamus distimulasi atau oleh saraf atau hormon target sebagai umpan balik. Estrogen merupakan umpan balik yang berperan sebagai inhibitor FSH-RF, akan tetapi hormon ini mendorong pembentukan LH-RF. Apabila progesteron berlebihan akan menjadi inhibitor dalam pembentukan LH-RF (Yatim, 1976). Ada sekitar lima hormon yang berfungsi dalam regulasi hormon pada wanita yaitu hipotalamus menghasilkan Gn-RH yang berada di otak, lobus anterior hipofisis menghasilkan FSH dan LH dihasilkan oleh lobus posterior hipofisis, folikel yang sedang berkembang di teka folikuli eksterna menghasilkan estrogen serta korpus luteum menghasilkan progesteron (Greenstein dan Wood, 2005). Estrogen dan progesteron merupakan hormon yang bertindak secara antagonis, namun biasanya juga sinergis. Pertumbuhan lapisan mukosa dan kelenjar kelamin didorong oleh estrogen (Yatim, 1976). Estrogen dapat mengubah epitel pada vagina dari tipe kuboid menjadi berlapis karena lebih tahan terhadap infeksi dan trauma. Terjadinya poliferasi juga disebabkan karena estrogen pada stroma endometrium dan dapat meningkatkan perkembangan kelenjar endometrium yang akan memberikan nutrisi pada ovum saat siap untuk implantasi (Guyton, 1976).

Kadar estrogen naik karena sel silia dan sel sekretori semakin tinggi pada lapisan epitel tuba saat aktif bermitosis (Yatim, 1996). Estrogen menyebabkan endometrium berproliferasi, sekresi endometrium dan besarnya kelenjar endokrin disebabkan karena progesteron. Untuk menjaga kebuntingan maka hormon progesteron berperan, dan

apabila hormon progesteron menurun maka akan terjadi keguguran ataupun kelahiran prematur (Sonjaya, 2010). Peningkatan sekresi mukosa dan tuba fallopi karena progesteron dan sekresi tersebut berfungsi untuk nutrisi ovum yang telah dibuahi. (Guyton, 1976).

2.6 Cisplatin

Cisplatin adalah suatu obat kemoterapi yang telah lama diketahui dan digunakan secara luas dalam dunia kedokteran. Regimen kombinasi kemoterapi berbasis Cisplatin sampai saat ini masih banyak dipakai untuk pengobatan kanker seperti kanker testis, kanker kepala dan leher, sarkoma, *small-cell* karsinoma, limfoma dan kanker ovarium. Cisplatin, atau cis-diaminadikloroplatina (II) merupakan senyawa yang pertama di deret platina (II) segiempat planar dengan kandungan obat kemoterapi, termasuk Carboplatin dan Oxaliplatin. Senyawa cisplatin juga bisa membentuk ikatan silang dengan DNA dan sel dapat dibunuh melalui zat kemoterapi pengalkilasi (Wheate, 2010).

2.6.1 Mekanisme Kerja Cisplatin

Senyawa Cisplatin banyak pula yang digunakan untuk mengobati penyakit keganasan non ginekologi (Rebecca, 2006) Mekanisme kerja toksisitas cisplatin pada ovarium belum dijelaskan secara menyeluruh. Namun, diperkirakan bahwa adanya peningkatan produksi radikal bebas dan penurunan produksi antioksidan endogen berdampak pada terjadinya toksisitas cisplatin terhadap ovarium. Telah diklaim bahwa kerusakan organ yang berkaitan dengan radikal bebas terjadi sebagai konsekuensi mekanisme pertahanan antioksidan yang terganggu (Altuner, 2013).

Mekanisme kerja lain dari Cisplatin adalah merusak mitokondria, menurunkan ATP dan mengganggu kerja transport yang terjadi dalam sel. Cisplatin membuat siklus

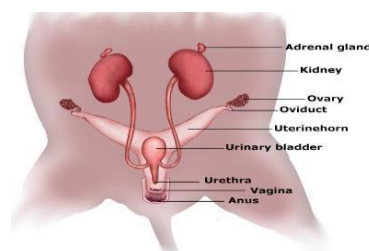
sel berhenti pada tahap G2 yang mana menyebabkan apoptosis pada sel kanker (Topik, 2014).

2.6.2 Efek samping *Cisplatin*

Cisplatin sebagaimana obat lain yang digunakan untuk kemoterapi, juga mempunyai efek samping yang berat. Termasuk di dalamnya nefrotoksisitas yang sangat kronis dan berbahaya. Efek samping yang lain adalah neurotoksisitas, mual, muntah, mielosupresi, alopesia dan penurunan kekebalan tubuh. Alopesia dan penurunan imunitas umumnya akan kembali normal setelah pengobatan (Dipiro, 2015). Cisplatin menyebabkan kerusakan DNA yang selanjutnya menyebabkan terhentinya siklus sel sehingga merangsang *nucleotide excision repair* (NER) untuk memperbaiki kerusakan sel. Bila terjadi kerusakan yang luas maka tubuh secara otomatis akan mengaktifkan proses apoptosis (Dabhlokar, 1992).

Efek samping parah yang ditimbulkan selama kemoterapi kanker membatasi penggunaan obat antikanker yang tepat. Obat anti-kanker, terutama yang digunakan pada masa kanak-kanak dan pada masa reproduksi, dapat menyebabkan beberapa komplikasi seperti insufisiensi ovarium dan infertilitas. Oleh karena itu, dalam beberapa tahun terakhir, percobaan telah dimulai pada beberapa metode untuk mencegah kemandulan pada pasien yang diberi kemoterapi (Oktay, 2005).

2.7 Organ Reproduksi Uterus



Gambar 2.7 Organ Tikus Putih Betina

Uterus adalah salah satu organ reproduksi betina yang fungsinya untuk menerima tempat perkembangan ovum yang sudah dibuahi. Uterus pada tikus berbetuk tabung ganda yang disebut tipe dupleks (Partodihardjo, 1988).

Uterus merupakan suatu organ muskular berongga yang memiliki dinding tebal dan terdiri dari otot-otot polos. Uterus terdiri dari fundus uteri, corpus uteri dan serviks uteri. Bagian fundus uteri adalah bagian uterus proksimal, bagian ini tempat kedua tuba falopi masuk dalam uterus, serta serviks yaitu bagian bawah yang berbentuk silindris yang bermuara ke dalam vagina (Prawiroharjo, 2005). Secara histologi dinding uterus terdiri atas tiga lapisan antara lain lapisan perimetrium, muscular atau miometrium dan lapisan endometrium (Lesson and Paparo, 1996).

Dinding uterus terdiri atas tiga lapisan antara lain perimetrium, miometrium dan endometrium (Lesson and Paparo, 1998). Perimetrium atau lapisan serosa merupakan lapisan yang terdiri atas selapis sel mesotelial yang ditopang oleh jaringan ikat tipis. Miometium atau lapisan muscular merupakan lapisan paling tebal dari uterus dengan ketebalan sekitar 12-15cm, lapisan tersebut memiliki serat otot polos yang dipisahkan oleh kolagen dan serat elastik (Cicilia, 2013). Miometrium memiliki berkas otot polos yang membentuk tiga lapisan, pada lapisan otot dalam dibentuk oleh serat-serat yang tersusun memanjang (*stratum subvasculer*), lapisan otot tengah tersusun melingkar dilengkapi dengan banyak pembuluh darah (*stratus vasculer*) dan lapisan otot luar memanjang yang tipis dibawah peritonium disebut *stratum suprasculer* (Lesson and Paparo, 1996). Lapisan endometrium terdiri atas epitel dan lamina propia yang mengandung kelenjar tubular simpleks (Cicilia, 2013). Sel epitel pada endometrium terdiri dari epitel selapis silindris bersilia dan memiliki tiga daerah fungsional, yaitu

stratum kompakturnya, stratum basalis, dan stratum spongiosum. Stratum kompakturnya dan spongiosum disebut sebagai stratum fungsional yang dilapisi oleh epitel berbentuk kubus selapis ketika mengalami degenerasi sebagian atau keseluruhan secara periodik selama siklus menstruasi sedangkan stratum basalis relatif tetap dan bertugas sebagai pembentuk stratum fungsional yang mengalami degenerasi (Burkitt *et al.*, 1993).

2.8 Reseptor Estrogen Uterus

Reseptor estrogen adalah bagian dari superfamili reseptor hormon inti (Hiroi, 1999). Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua reseptor estrogen dalam tubuh yaitu reseptor estrogen alfa ($ER\alpha$) dan reseptor estrogen beta ($ER\beta$). Gen yang mengkode pada reseptor estrogen alfa ($ER\alpha$) dan reseptor estrogen beta ($ER\beta$) berbeda. Gen yang mengkodekan $ER\alpha$ terletak pada kromosom ke-6 pada untai lokus q25.1, dan gen yang mengkodekan $ER\beta$ terletak pada pita q22-24 kromosom ke-14 (Bjornstrom, 2005). Kedua reseptor tersebut mampu mengikat estrogen baik yang bersifat agonis maupun antagonis. Hal ini dikarenakan efek biologis suatu hormon hanya akan muncul apabila terjadi ikatan antara hormon dan reseptornya. Interaksi antara estrogen dengan reseptornya dalam menimbulkan efek fisiologis dalam tubuh untuk menunjang kestabilan fungsi sistem reproduksi.

Aksi biologi reseptor estrogen dapat terjadi melalui 2 mekanisme yaitu: *genomic action* (mekanisme genomik) dan *non genomic action* (mekanisme non genomik). Mekanisme genomik melibatkan reseptor estrogen yang berada pada nukleus (*nuclear receptor*). Interaksi pengikatan antara ligan dengan reseptor atau molekul yang agonis akan menyebabkan perubahan konformasi pada reseptor estrogen. Hal ini dapat memicu terbentuknya dimerisasi yaitu homodimer atau heterodimer yang akan menempati bagian promotor yang disebut *estrogen response element* (ERE) pada gen target, sehingga

menyebabkan terjadinya proses transkripsi gen. Mekanisme genomik ini membutuhkan waktu yang relatif lama dan sensitif terhadap inhibitor transkripsi demikian halnya dengan inhibitor translasi (Losel, 2003).

Mekanisme non genomik melibatkan reseptor estrogen yang terletak di membran plasma dan sitoplasma (Razandi, 1999). Tidak seperti halnya dengan reseptor pada growth faktor yakni reseptor IGF-I (*Insulin-like growth factor-I*) dan EGFR (*epidermal growth factor receptor*), estrogen tidak memiliki bagian transmembran dan kinase. Oleh karena itu aksi estrogen tersebut melibatkan interaksi antara protein kompleks dan molekul signaling seperti MAPK (*mitogen activated protein kinase*), PI3K/Akt, p38, dan protein kinase A (PKA). Reseptor estrogen di membran plasma dapat menimbulkan efek fisiologi pada berbagai tipe sel, dimana respon yang diberikan tergantung dengan sel target (Song, 2006).

Razandi (1999) menjelaskan bahwa seperti halnya reseptor estrogen di nukleus, reseptor estrogen di membran plasma juga akan membentuk dimer untuk mendukung aksi transduksi sinyal secara cepat sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologi. Transmisi sinyal secara non-genomik mempunyai beberapa karakteristik, yaitu respon yang dihasilkan sangat cepat (hanya dalam beberapa detik atau menit), tidak sensitif terhadap inhibitor mRNA dan sintesis protein, dan banyak ditemukan pada sel-sel yang kurang memiliki reseptor estrogen nuklear.

Reseptor estrogen α maupun β memiliki lokalisasi dan konsentrasi yang berbeda pada setiap organ. ER α terdistribusi pada ovarium, uterus, kelenjar mammae, testis, kelenjar hipofisis, hipokampus, ginjal, epidermis, dan kelenjar adrenal. Sedangkan, ER β lebih banyak terdistribusi di luar jaringan penyusun organ reproduksi meskipun dapat juga

dijumpai pada ovarium (Hiroi, 1999). Letak reseptor yang berbeda dapat mengakibatkan efek paparan senyawa estrogenik juga berbeda pada hewan uji. Fungsi utama dari reseptor yaitu sebagai faktor DNA *binding transcription* yang mengatur ekspresi gen (Pratoko, 2012).

Peranan ER α yang dominan pada uterus mungkin menjadi alasan mengapa reseptor estrogen ini merupakan reseptor estrogen pertama yang diklon, karena kebanyakan pemurnian dan kloning didasarkan pada jaringan uterin (Pratoko, 2012). Menurut Hiroi (1999) ER α yang terlokalisasi pada uterus dapat dijumpai pada inti sel epitel kelenjar, lapisan endometrium, bagian stroma, dan miometrium. ER α mendominasi dalam beberapa jaringan spesifik dan sebagian besar terlibat dalam peristiwa reproduktif. Pada uterus, ER α berperan penting dalam memicu aktivitas proliferasi dan diferensiasi terhadap stroma, sel epitel luminal, epitel glandular, dan otot polos penyusun lapisan miometrium.

Oleh karena itu, jelas sekali bahwa perbedaan distribusi reseptor estrogen pada jaringan memiliki arti lebih penting dari segi farmasetikal, sebagai terapi penggantian hormon pada wanita menopause adalah seperti isu peningkatan kesehatan yang signifikan (Pratoko, 2012). Dengan demikian, pada penelitian ini pengamatan terhadap reseptor estrogen uterus dengan teknik imunohistokimia dianggap sangat penting untuk dapat menganalisis efek estrogen dalam mempengaruhi tingkat kesuburan hewan uji.

2.9 Tinjauan tentang Imunohistokimia

Teknik imunohistokimia adalah salah satu teknik yang dapat diaplikasikan untuk mendeteksi keberadaan antigen spesifik dalam sel atau jaringan dengan memanfaatkan prinsip ikatan antara antigen dan antibodi pada jaringan yang diperiksa (Taylor, 2006). Tempat antigen dapat ditentukan dengan cara mengetahui atau mendeteksi keberadaan

ikatan antigen-antibodi. Ikatan antara antigen-antibodi merupakan reaksi yang tidak dapat dilihat secara langsung. Sehingga, tempat pengikatan antigen-antibodi tersebut perlu diidentifikasi menggunakan marker yang umumnya dikonjugasikan pada antibodi dan bisa divisualisasi secara langsung atau melalui reaksi untuk mengidentifikasi marker. Adapun beberapa marker yang berupa senyawa berwarna antara lain: logam berat (seperti: silver, microsphere, label radioaktif, colloidal, gold) zat berfluoresensi (seperti: fluorescein, umbelliferon, tetrametil rodhamin), luminescence dan enzim (seperti: *alkaline phosphatase* dan *HorseRadish Peroxidase* (HRP))) (Prichard, 2014).

Teknik imunohistokimia didasarkan pada penggunaan antibodi spesifik yang diberi label dengan ikatan kimia pada suatu zat yang dapat divisualisasi, karena tanpa label tersebut dapat mempengaruhi kemampuan antibodi untuk mengenali antigen target. Pada teknik imunohistokimia antibodi yang biasanya digunakan adalah antibodi monoklonal, yaitu antibodi monospesifik yang dapat mengenali satu epitop saja (Taylor, 2006).

Analisis pada teknik imunohistokimia yaitu, reaksi positif ditandai dengan visualisasi warna coklat pada bagian sel yang memiliki spesifisitas terhadap antibodi primer yang digunakan (Alam, 2006). Adanya antibodi primer ini akan mengikat molekul antigen sel atau jaringan yang dikenali dan membentuk kompleks antigen-antibodi. Apabila kompleks antigen-antibodi tersebut bereaksi dengan kromogen maka akan dihasilkan endapan berwarna (kromogranin) yang tervisualisasikan dengan warna coklat (Ruifrok, 1997).

Teknik imunohistokimia dibedakan menjadi 2 metode yaitu, metode langsung (*direct method*) dan tidak langsung (*indirect method*). Teknik pewarnaan imunohistokimia secara langsung hanya menggunakan satu macam antibodi saja, yaitu

antibodi primer yang telah diberi label dan akan bereaksi langsung dengan antigen pada preparat sitologi maupun histologi untuk mengenali antigen spesifiknya (Bancroft dan Gamble, 2008). Metode ini cepat dan mudah untuk dilakukan dalam mendeteksi antigen, tetapi memiliki tingkat sensitivitas yang rendah (Howard dan Kaser, 2014). Sementara itu, pada teknik imunohistokimia secara tidak langsung diperlukan dua macam antibodi, yaitu antibodi primer yang tidak dilabel dan antibodi sekunder yang dilabel. Antibodi primer berfungsi untuk mendeteksi antigen yang sudah teridentifikasi pada jaringan (*first layer*) sedangkan antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer (*second layer*) (Ramos, 2005). Kelebihan dari metode *indirect* adalah memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi yaitu beberapa ribu kali lebih sensitif daripada metode *direct* (Howard dan Kaser, 2014).

Teknik imunohistokimia menurut Damayanti (2009) memiliki banyak keunggulan di antaranya: dapat mendeteksi antigen pada jaringan secara akurat, preparat dapat diamati dengan mikroskop cahaya, hasil pewarnaan tahan sampai beberapa bulan, dapat digunakan untuk studi retrospektif, untuk mempelajari patogenesis penyakit (prediksi antigen pada jaringan, kerusakan/lesi yang ditimbulkan antigen dan derajat keparahan lesi).

2.10 Tinjauan Tentang Tikus (*Rattus norvegicus*)

Peneliti banyak menggunakan Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan percobaan dalam penelitian. Para peneliti berharap tikus putih dapat mengsertifikasi ketika hewan tersebut sesuai dengan apa yang diperlukan. Ciri-ciri yang dibutuhkan oleh peneliti dalam menentukan tikus putih sebagai hewan percobaan, antara lain adalah

kontrol kesehatan, makanan, jenis (strain), recording perkawinan, silsilah genetik umur, jenis kelamin dan bobot badan(Widiartini et al., 2013).



Gambar 2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih menurut Akbar (2010) adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Familia	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Sifat yang menguntungkan bagi peneliti ketika memakai tikus putih sebagai bahan percobaan karena tikus putih memiliki sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, masa bunting tikus putih singkat, umur relatif pendek, setiap fase siklus jelas, pemeliharaan dan penanganan mudah serta biaya relatif murah. Ciri-ciri morfologi tikus putih yaitu ekor lebih panjang dibandingkan dengan badan, warna albino, kepala kecil, dan pertumbuhan

dari tikus putih cepat. (Akbar, 2010). Tikus putih yang digunakan berumur sekitar 2-3 bulan dan bobot badan kira-kira 180-200 gram (Harmita dan Radji, 2008).

Tikus putih termasuk hewan yang memiliki sifat poliestrus yaitu siklus reproduksi yang sangat pendek. Setiap siklus lamanya berkisar antara 4-5 hari, dan juga siklus birahi lebih dari dua kali dalam setahun. Saat ovulasi berlangsung sekitar 8-11 jam setelah tahap estrus dimulai (Akbar, 2010). Tikus putih dewasa berumur sekitar 20-22 hari, dan masa laktasi selama 21 hari, tikus putih bertahan hidup kira-kira 4 tahun (Malole, 1989).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 4 kali ulangan. Menggunakan tikus kontrol negatif, tikus kontrol positif, tikus infertil yang diberi kombinasi tiga dosis berbeda, serta tikus infertil yang diberi jamu subur kandungan dengan merk jokotole. Ekstraksi kombinasi temu mangga (*Curcuma mangga*), bawang putih (*Allium sativum*) dan jeringau (*Acorus calamu*) dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Untuk menentukan jumlah tikus yang diperlukan sebagai hewan coba, dapat digunakan rumus sebagai berikut (Supranto, 2000):

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyaknya kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap perlakuan

Perhitungan :

$$t = 7$$

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 6$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21/6$$

$$n \geq 3,5$$

$$(4 \times 7 = 28 \text{ ekor})$$

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 28 ekor tikus putih betina fertil galur *Wistar* yang berumur $\pm 2-3$ bulan dengan berat badan 100-150 g.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah kontrol negatif (K-) (Na CMC 0,5%), kontrol positif (K+) (cisplatin dosis 5 ml dan klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kg BB), P1 (cisplatin dosis 5 mg/kg BB ditambah kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih dosis 50 mg/kg BB), P2 (cisplatin dosis 5 mg/kg BB ditambah kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih dosis 75 mg/kg BB), P3 (cisplatin dosis 5 mg/kg BB ditambah kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih dosis 100 mg/kg BB), dan P4 (cisplatin dosis 5 mg/kg BB dan jamu subur kandungan dosis 75 mg/kg BB), serta P6 (cisplatin dosis 5 mg/kg BB).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah siklus estrus dan gambaran histologi oviduk dan berat oviduk tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang meliputi histologi pada tebal lapisan mukosa dan lapisan otot polos.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah jenis hewan coba yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*, jenis kelamin betina, umur $\pm 2 - 3$ bulan, berat 100 - 150 g, pakan BR1 10 g/hari dan minum secara *ad libitum*.

3.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni - Desember 2018 di Laboratorium Fisiologi Hewan, Hewan Coba dan Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi, Laboratorium Analisis Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, serta Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kandang pemeliharaan hewan coba yang terbuat dari bak plastik dan ram kawat, tempat makan dan minum, spuit 1cc, alat pencekok oral (gavage) 16G, *cotton bud*, optilab, seperangkat alat bedah, wadah organ, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *beaker glass* 50 ml dan 500 ml, erlenmeyer 500 ml, kertas saring halus, gelas ukur 100 ml, labu ukur 100 ml, corong gelas, pengaduk kaca, mikrotom, *hot plate*, *waterbath*, oven, pipet tetes, spatula, *objek glass*, serta mikroskop binokuler Nikon E 100.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Wistar* berat badan 150-200 g usia \pm 3-4 bulan, pakan BR1, sekam, ekstrak dari rimpang jeringau jeringau (*Acorus calamus*), temu manga (*Curcuma mangga*), dan bawang putih (*Allium sativum*) yang diperoleh dari Balai Materia Medika Kota Batu, jamu subur kandungan produksi PJ. Ribkah Maryam Jokotole, Na CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*), aquades, pakan BR1, pewarna giemsa merk sigma, hormon PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*) dan hCG (*Human Chorionic Gonadotropin*), NaCl, aquabides, paraffin, alkohol bertingkat (50%, 70%, 80%, 90%, 100%), xilol, kloroform, formalin 10%, entelan, hematoxilin, eosin, PBST (*buffer natrium sitrat*), kromogen DAB, BSA 1% (*Bovine Serum Albumin*), anti-reseptor alfa estrogen rat, antibodi sekunder berlabel biotin, SA-HRP (*Sterp advin-horseradish peroxidase*), hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%, tripolifosfat (TPP).

3.6. Kegiatan Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Langkah awal sebelum penelitian dimulai, terlebih dahulu menyiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang terdiri atas kandang atau bias menggunakan bak plastik dengan atap berupa kawat ram, sekam serta tempat makan dan minum. Hewan coba diaklimatisasi selama satu minggu, diberi makan BR1 dan minum secara *ad libitum*.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

Penelitian ini terdiri dari tujuh macam perlakuan. Jumlah sampel yang digunakan ditentukan berdasarkan rumus yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri atas empat ekor tikus sebagai ulangan. Kelompok perlakuan dibagi sebagaimana berikut:

1. Kelompok 1 (perlakuan kontrol): Tikus yang diberi perlakuan 1 ml Na CMC 0,5%.
2. Kelompok 2 (perlakuan kontrol positif/PK+): Tikus yang diberi perlakuan cisplatin dosis 5 mg/kg BB ditambah klomifen sitrat dosis 0,9 mg/Kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%.
3. Kelompok 3 (perlakuan 1): Tikus yang diberi perlakuan cisplatin dosis 5 mg/kg BB ditambah kombinasi ekstrak temu mangga, jeringau dan bawang putih dosis 50 mg/kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%.
4. Kelompok 4 (perlakuan 2): Tikus yang diberi perlakuan cisplatin dosis 5 ml/kg BB ditambah kombinasi ekstrak temu mangga, jeringau dan bawang putih dosis 75 mg/kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%.
5. Kelompok 5 (perlakuan 3): Tikus yang diberi perlakuan cisplatin dosis 5 ml/kg BB ditambah kombinasi ekstrak temu mangga, jeringau dan bawang putih dosis 100 mg/kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%.
6. Kelompok 6 (perlakuan 4) : Tikus yang diberi perlakuan cisplatin dosis 5 ml/kg BB ditambah jamu subur kandungan dosis 75 mg/ kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%.
7. Kelompok 7 (perlakuan kontrol -/PK-) : Tikus yang diberi perlakuan cisplatin 5mg/kg BB ditambah 1 ml Na CMC 0,5%

3.6.3 Preparasi Sampel Tumbuhan Jeringau, Temu Mangga dan Bawang Putih

Sampel yang digunakan yaitu simplisia rimpang jeringau (*Acarus calamus*), rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*) dan umbi bawang putih (*Allium sativum*) yang

diperoleh dan dideterminasi di UPT. Materia Medika Batu. Masing-masing simplisia diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

3.6.4 Ekstraksi Simplisia Jeringau, Temu Mangga dan Bawang Putih dengan Metode Maserasi

Sebanyak 28 g serbuk rimpang jeringau, 36 g serbuk rimpang temu manga, dan 36 g serbuk bawang putih dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml lalu ditambahkan pelarut etanol 70% perbandingan 1:4 agar semua larutan dapat terendam, kemudian direndam selama 24 jam. Kemudian disaring dengan kertas saring Whattman dan ampas yang diperoleh di maserasi kembali dengan etanol 70%. Tahap tersebut dilakukan sebanyak 3 kali ulangan sampai filtratnya berwarna bening. Filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C sampai didapatkan ekstrak pekat.

3.6.5 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

Sediaan larutan Na CMC 0,5% dibuat dengan memasukkan 1120 mg Na CMC ke dalam 100 ml aquades hangat, kemudian didiamkan kurang lebih 15 menit. Hasil yang terbentuk adalah sediaan berwarna bening dan berbentuk menyerupai gel. Selanjutnya diaduk hingga menjadi massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan aquadest hingga volume 224 ml.

3.6.6 Penyerentakan Siklus Birahi

Proses penyerentakan siklus estrus dilakukan dengan cara injeksi hormon PMSG dan hCG. Hal ini dilakukan karena hewan coba yang digunakan berjenis kelamin betina yang cenderung di pengaruhi oleh siklus estrus. Proses ini dilakukan dengan cara menginduksi hormon PMSG (*pregnant mare's serum gonadotrophin*) 10 IU pada pukul 14.00 WIB., selanjutnya ditunggu hingga 48 jam lamanya kemudian diinjeksikan kembali hormon hCG (*human chorionic gonadotrophin*) 10 IU, maka akan terjadi fase estrus

setelah 17 jam berikutnya, dan penginjeksian ini dilakukan pada bagian intraperitoneal atau bagian lambung.

3.6.7 Penentuan Siklus Estrus Melalui Apusan Vagina

Penentuan siklus estrus diawali dengan membuat preparat apusan vagina yang dilakukan setiap hari pada pukul 06.00-08.00 WIB dan 17.00-19.00 WIB. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan *cotton bud* yang dibasahi dengan larutan NaCl, secara perlahan dimasukkan ke dalam vagina tikus betina dengan sudut $\pm 45^\circ$ dan diulas searah sebanyak 1-2 kali putaran. Hasil dioleskan pada gelas objek dan dikeringkan pada suhu kamar. Setelah kering, apus vagina digelontor dengan larutan etanol 70% untuk difiksasi selama 3 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Apusan vagina ditetesi larutan giemsa selama 15 menit lalu dibilas dengan air yang mengalir dan dikeringkan (Sjahfirdi, 2013). Preparat apusan vagina kemudian diamati menggunakan mikroskop yang tersambung dengan aplikasi optilab perbesaran 10 \times dan 40 \times . Fase siklus estrus dapat ditentukan dengan mengamati perbandingan sel epitel berinti, sel epitel menanduk (kornifikasi), dan leukosit pada hasil apusan vagina (Sitasiwi, 2009).

3.6.8 Penentuan Dosis Cisplatin

Penentuan dosis pemberian cisplatin yang berfungsi untuk membuat tikus putih model infertil mengacu pada sediaan obat Cisplatin produksi PT. Kalbe Medica. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut:

Cisplatin tersedia dalam bentuk cairan injeksi vial dengan komposisi 100 mg/100 ml. Pemberian dilakukan secara injeksi intraperitoneal dengan hitungan 5 mg/kg BB (Altuner, 2013)

Dosis pada tikus dengan BB 150 gr =

$$\frac{5}{1000} = \frac{\quad}{150}$$

$$x \text{ mg} = \frac{5150}{1000}$$

$$x = 0,75 \text{ mg}$$

Sediaan cisplatin 100mg/100 ml sehingga untuk tikus dengan BB 150 gr diinjeksikan 0,75 mg/ml.

3.6.9 Penentuan Dosis Perlakuan

Penentuan dosis perlakuan mengacu pada aturan minum Jamu Subur Kandungan produksi PJ. Ribkah Maryam Jokotole. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut:

Perkapsul jamu subur kandungan mengandung 500 mg yang diminum 8 kapsul/hari (2 × sehari masing-masing 4 kapsul).

$$\text{Dosis pada manusia} = 500 \text{ mg} \times 8$$

$$= 4000 \text{ mg}$$

Faktor konversi manusia ke tikus = 0,018 (Laurence, 1964).

$$\text{Dosis pada tikus dengan BB g} = 4000 \times 0,018$$

$$= 72 \text{ mg/ g BB}$$

Dosis 72 mg/g BB diturunkan menjadi 50 mg/g BB dengan rentang dosis diatasnya sebesar 25 mg/2g BB. Sehingga dosis pada perlakuan untuk masing-masing kombinasi adalah 75 mg/ g BB dan 50 mg/ gr BB.

3.6.10 Penentuan Dosis Kломifen Sitrat

Penentuan dosis kломifen sitrat mengacu pada aturan minum obat Blesifen produksi PT. Sande Farma. Hasil perhitungan adalah sebagai berikut: Dosis kломifen sitrat perkapsul : 50 mg

Dosis pada manusia, Dosis 1 kapsul/hr : 50 mg/70 kg BB/hr

Faktor konversi manusia ke tikus = 0,018 (Laurence, 1964).

$$\begin{aligned}\text{Dosis untuk tikus BB g} &= 50 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 0,9 \text{ mg/g BB/hr}\end{aligned}$$

Dosis pemberian klomifen sitrat pada tikus didapat sebesar 0,9 mg/g BB/hr.

3.6.11 Pemberian Perlakuan

Langkah awal yaitu membuat tikus putih menjadi model infertil dengan pemberian cisplatin secara injeksi intraperitoneal. Pemberian cisplatin dilakukan satu kali setelah injeksi cisplatin (Akunna, 2017). Tikus infertil dapat diketahui dengan beberapa cara diantaranya saat pemeriksaan apus vagina yang menunjukkan fase diestrus, terjadinya fase birahi dengan gejala klinis anestrus, serta birahi pendek (Ningtyas, 2017). Selanjutnya, dilakukan penyeratakan siklus birahi menggunakan hormon hCG dan PMSG. Pada hari ketiga setelah pemberian cisplatin merupakan fase estrus kemudian diberi kombinasi ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih diberikan pada tikus betina infertil secara oral atau diberikan secara langsung dengan cara dicekok menggunakan sonde lambung. Pemberian ekstrak kombinasi dilakukan setiap hari pada pukul 09.00 pagi selama 15 hari atau selama 3 kali siklus estrus. Kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke 16 dan diambil organ oviduk untuk diukur beratnya dan dibuat preparat.

3.7 Teknik Pengambilan Data

3.7.1 Pengambilan Organ Uterus

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pembedahan pada fase estrus untuk masing-masing sampel. Proses pembedahan pada tikus untuk pengambilan organ uterus dilakukan setelah pemberian perlakuan selama 15 hari. Pengambilan uterus dilakukan dengan cara membius tikus menggunakan kapas berkloroform di dalam toples.

Selanjutnya tikus diletakkan pada papan seksi dan dibedah untuk diambil organ uterusnya.

3.7.2 Pembuatan Preparat Uterus dengan Pewarnaan Imunohistokimia

Pembuatan preparat uterus dengan pewarnaan imunohistokimia sama halnya dengan pewarnaan HE pada tahap fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, pemotongan dan deparafinisasi. Selanjutnya dilakukan proses pewarnaan imunohistokimia yang terdiri atas tahapan:

1. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali ulangan masing-masing selama 3 menit.
2. Preparat ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3% (*Hidrogen Peroksida*) selama 20 menit untuk membloking enzim peroksida endogen.
3. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 3 menit.
4. Preparat diinkubasi di dalam larutan 1% BSA (*Bovine Serum Albumin*) selama 1 jam pada suhu ruang
5. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 3 menit.
6. Preparat ditetesi dengan antibodi primer reseptor alfa estrogen rat dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
7. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.
8. Preparat ditetesi dengan antibodi sekunder berlabel biotin enzim lalu diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
9. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.
10. Preparat ditetesi dengan SA-HRP (*Sterp advin-horseradish peroxidase*) lalu diinkubasi selama 40 menit.

11. Preparat dicuci dengan PBS sebanyak 3 kali masing-masing selama 5 menit.
12. Preparat ditetesi dengan kromogen DAB dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
13. Preparat dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
14. Dilakukan *counterstain* dengan hematoxilin selama 2 menit.
15. Preparat dicuci dengan air mengalir selama 5 menit.
16. Preparat direhidrasi dalam alkohol bertingkat 70%, 80%, dan 99% masing-masing selama 2 menit.
17. Diusap preparat dengan kain kasa, dicuci dengan xilol dan ditutup dengan *deckglass* menggunakan entelan.

3.7.3 Pengamatan Histologi Uterus

3.7.3.1 Pengamatan Preparat Uterus dengan Pewarnaan Imunohistokimia Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x.

Pengamatan preparat imunohistokimia uterus dikelompokkan berdasarkan dua parameter, yaitu rata-rata jumlah dot untuk warna coklat DAB yang terlokalisasi dan rata-rata intensitas warna coklat DAB. Warna coklat DAB yang terlokalisasi dianalisis menggunakan Imunoratio. Rata-rata intensitas warna coklat DAB dihitung berdasarkan analisis semikuantitatif. Hal ini dilakukan melalui pemberian skor terhadap intensitas warna coklat pada area yang terbentuk. Skor imunohistokimia pada penelitian ini meliputi (Suja *et al.*, 2009):

Skor 0 (tidak terdapat area berwarna coklat, 0%),

Skor 1 (warna coklat sangat kurang pekat, 1-20%),

Skor 2 (warna coklat kurang pekat, 21- 40%),

Skor 3 (warna coklat agak pekat, 41-60%),

Skor 4 (warna coklat pekat, 61-80%), dan

Skor 5 (warna coklat sangat pekat, 81-100%).

3.8 Analisis Data

Analisis data ekspresi reseptor alfa estrogen yang diperoleh, dianalisis menggunakan gambaran imunohistokimia uterus secara deskripsi disajikan dalam bentuk foto.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini memuat hasil penelitian yang sesuai dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek kombinasi ekstrak bawang putih (*Allium sativum* L), jeringau (*Acorus calamus* L) dan temu mangga (*Curcuma mangga* Val) terhadap ekspresi reseptor estrogen uterus tikus (*Rattus noervegicus*) infertil. Hasil penelitian ekspresi ER alpha pada bagian uterus tikus ditemukan pada inti sel yang menandakan telah terjadi ikatan antara antigen dan antibody yang dipakai pada pewarnaan IHK menggunakan teknik immunohistokimia.

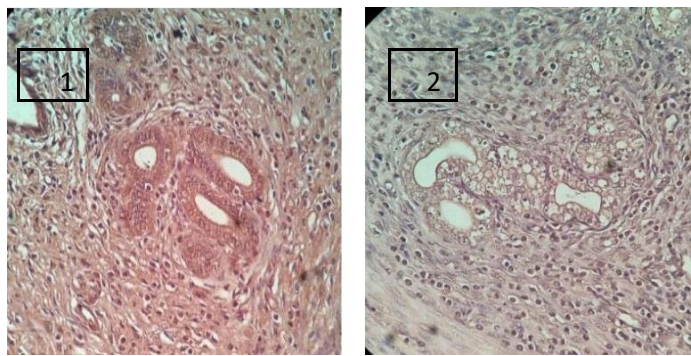
Hasil pemeriksaan menggunakan mikroskop perbesaran 40x preparat histologi uterus mencit pada perlakuan kontrol negatif yaitu tiikus diberi cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5% terdapat inti sel yang tidak berwarna coklat, yang menandakan bahwa tidak adanya ikatan antara antigen dan antibody dengan pewarnaan IHK. Menurut (Taylor, 2006) menjelaskan bahwa pewarnaan IHK merupakan teknik yang diaplikasikan sebagai deteksi adanya ER alpha dan bahan aktif yang lain dan sel ataupun adanya ikatan antara antigen dan antibody. Warna coklat merupakan hasil interaksi antara antigen yang berkaitan dengan antibody primer dan antibody sekunder berupa SA-HRP serta DAB. Komplek yang terbentuk dari kromogen DAB akan membentuk warna coklat gelap. Hasil pemeriksaan menggunakan mikroskop perbesaran 40x preparat histologi uterus mencit dengan perlakuan kontrol positif yaitu pemberian cisplatin dosis 5mg/kgBB ditambah klomifen sitrat dosis 0,9 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5 % memiliki hasil yang tidak jauh berbeda dengan perlakuan control yaitu tidak banyak warna coklat pada sel yang terlihat, sebagian berwarna biru yang menandakan

bahwa sel tersebut dipenuhi oleh pewarna Hematoxilin. Hal tersebut menjelaskan bahwa tidak adanya ikatan antara antigen dan antibody pada perlakuan positif.

Pada kelompok 3 dengan perlakuan 1 tikus diberi perlakuan cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB ditambah kombinasi ekstrak temu manga, jeringau dan bawang putih dosis 50 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5% dengan perbesaran 40x terlihat banyak sel yang berwarna coklat dan sedikit yang berwarna biru, hal ini menandakan bahwa masih ada ikatan antara antigen dan antibody di kelompok 3 perlakuan 1 yang diberi dengan kombinasi ekstrak tersebut. Pada kelompok 4 dengan perlakuan 2 tikus diberi perlakuan cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB ditambah kombinasi ekstrak temu manga, jeringau dan bawang putih dosis 75 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5% melalui perbesaran 40x terlihat sudah banyak warna coklat pada sel tersebut dan sangat sedikit sel yang berwarna biru. Hal tersebut menandakan bahwa adanya ikatan antara antigen dan antibody di perlakuan 2 dengan kombinasi ekstrak 75 mg/kgBB. Pada kelompok 5 perlakuan 3 tikus diberi perlakuan cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB ditambah kombinasi ekstrak temu manga, jeringau dan bawang putih dosis 100 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5% melalui perbesaran 40x dengan mikroskop terlihat banyak sekali sel yang berwarna biru dan hampir semua berwarna biru sedangkan sel yang berwarna coklat sebagian. Hal ini menandakan bahwa ada sebagian sel yang memiliki ikatan antigen dan antibody.

Pada kelompok 6 perlakuan 4 tikus diberi perlakuan cisplatin dengan dosis 5 mg/kgBB ditambah jamu subur kandungan dosis 75 mg/kgBB ditambah 1 ml Na CMC 0,5% sebagian sel berwarna biru dan didominasi oleh warna coklat. Hal ini menandakan bahwa pada dosis 75 mg/kgBB jamu subur kandungan terdapat ikatan antigen dan antibody. Pada perlakuan kontrol tikus diberi perlakuan 1 ml Na CMC 0,5%

dengan perbesaran mikroskop 40x menghasilkan gambar yang menandakan tidak adanya sel berwarna coklat jadi tidak ada ikatan antara antigen dan antibody.



Gambar 4.1 histologi uterus tikus putih

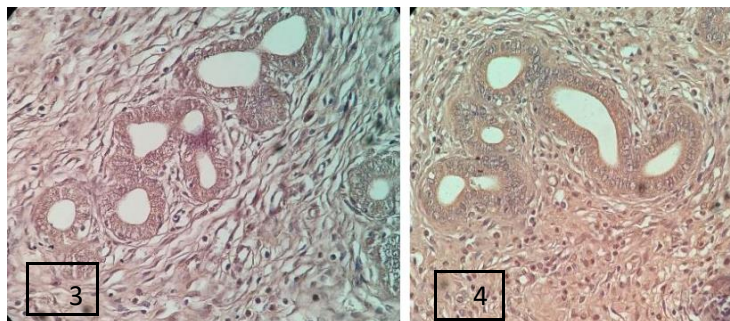
Keterangan : 1. Pengaruh pemberian Cisplatin kontrol (-) histologi uterus tikus

putih perbesaran 40x menghasilkan sedikit warna coklat

2. Pengaruh pemberian Cisplatin dan klomifen sitrat kontrol (+)

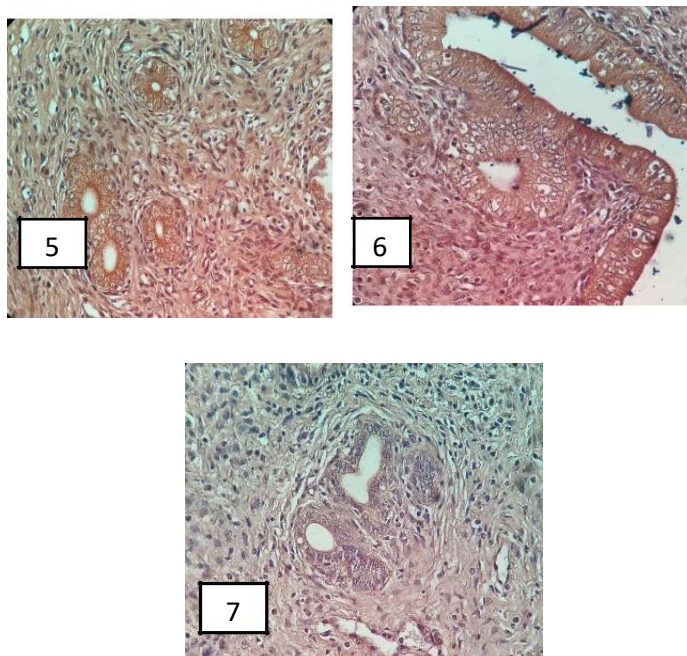
histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan tidak

banyak warna coklat



Gambar 4.2 histologi uterus tikus putih

- Keterangan : 3. Pengaruh pemberian Cisplatin dan ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih 50mg/kgBB histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan banyak warna coklat dan sedikit biru
4. Pengaruh pemberian Cisplatin dan ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih 75mg/kgBB histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan banyak warna coklat dan sedikit biru



Gambar 4.3 histologi uterus tikus putih

- Keterangan : 5. Pengaruh pemberian Cisplatin dan ekstrak jeringau, temu mangga dan bawang putih 100mg/kgBB histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan banyak warna biru, sedikit coklat
6. Pengaruh pemberian jamu subur kandungan histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan banyak warna coklat
7. Pengaruh pemberian Na CMC histologi uterus tikus putih perbesaran 40x menghasilkan tidak ada warna coklat

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian dan pengamatan yang dikerjakan oleh peneliti, maka dapat disimpulkan bahwa dosis yang paling tepat untuk pemberian dosis 75 mg/kgBB. Karena dosis tersebut dapat memberikan ikatan antigen dan antibody yang tervisualisasikan dengan warna kecoklatan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menganalisis perhitungan sel yang terwarnai coklat

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.R. dan M. O. Moss. 2000. Food Microbiology. 2nd ed. Royal Society of Chemistry, Aathenaem Press Ltd, University of Surrey, Guildford, UK
- Al-Mahally, Imam Jalaludin dan Iman Jalaluddin As Sayuthi. 1990. *Tafsir Jalalain 4 Terjemahan: Bahrin Abu Bakar*. Bandung. Sinar Baru.
- Badan Pusat Statistik, 2010). Badan Pusat Statistik, 2010. Data Statistik Indonesia. Jumlah Penduduk menurut Kelompok Umur, Jenis Kelamin, Provinsi, dan Kabupaten/Kota, 2005
- Elfahmi. 2006. *Phytochemical and biosynthetic studies of Lignans, with a focus on Indonesian medicinal plants (dissertation)*. University of Groningen. 2006.
- Gross, T., J. Faull., S. Ketteridge., D. Springham. 1995. Introductory Microbiology. Chapman and Hall. Great Britain. 51.
- Harborne, J. 1987. Metode Fitokimia, Edisi Kedua. ITB. Bandung.
- Madigan, M.T , Martinko, M.J , Parker. J. 2002. Brock Biology of Microorganism. 10th Edition. Practice Hall. USA. 375-378
- Malsch NH. 2005. *Biomedical Nanotechnology*. New York: Taylor & Francis Group.
- Mathivanan R, Edwin SC, Amutha R and Viswanathan K. 2006. *Panchagavya and Andrographis Panicuata as Alternative to Antibiotic Growth Promoter on Broiler Production and Carcass Characteristic*. India. Departement

of Poultry Science, Veterinary College and Research Institute.
Namakkal-637001.

Morcol T *et al.* 2004. Calcium phosphate- PEG-insulin-casein (CAPIC) particles as oral delivery systems for insulin. *Int J Pharma* 277:91–97.

Sunderland CJ, Steiert M, Talmadge JE, Derfus AM, Barry SE. 2006. Targeted nanoparticles for detecting and treating cancer. *Drug Dev. Res.* 67:70–93

Suyatma NE, Copinet A, Coma V, Tighzert L. 2004. Mechanical and barrier properties of biodegradable films based on chitosan and poly (lactic acid) for food packaging application. *J. of Polym. and the Environ.* 12:1-12.

Taylor, G. Allen. 2006. *SQL For Dummies, 6nd Edition.* . Indianapolis, Indiana:

Wiley Publishing,Tjandrawinata RR, Arifin PF, Tandrasasmita OM, Rahmi D, Aripin A. DLBS1425, a *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. extract confers anti proliferative and proapoptosis effects via eicosanoid pathway. *J. Exp Ther.*.

Todar, K. PhD. 2008. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal disease.* Todar's OnlineTextbookofBacteriology(<http://textbookofbacteriology.net/staph.html>, Diakses pada 4 November 2017)

Widayati, P. 2008. Efek Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Mencit Putih Jantan Galur Balb-C Hiperurisemia [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Wijayakusuma dan Hembing H.M. 2003. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah

Tinggi. Penebar Swadaya. Jakarta . 64-65.

Hewitt, S. C., Winuthayanon, W., Korach, K. S., 2016, What's New in

Estrogen Receptor Action in The Female Reproductive Tract.

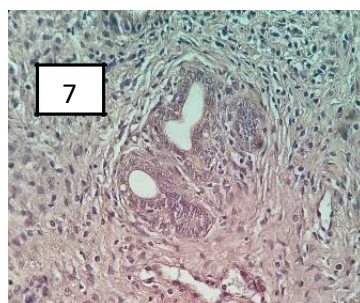
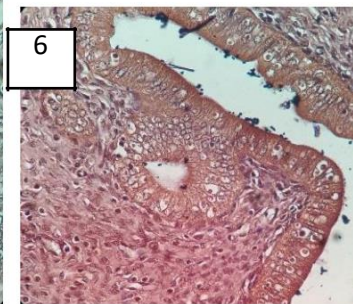
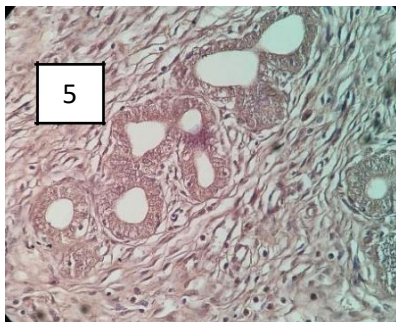
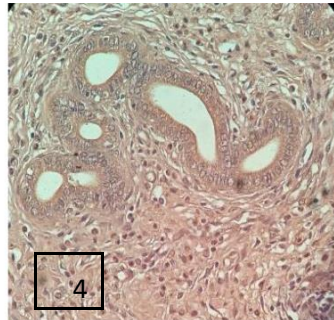
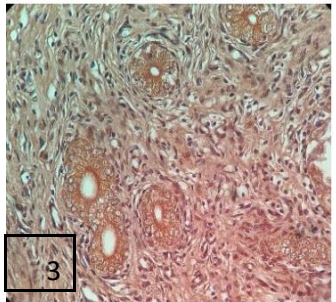
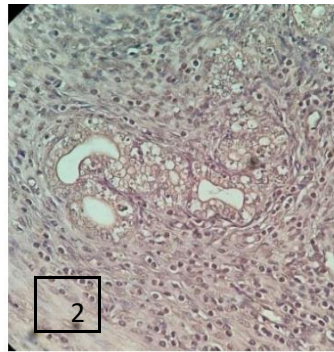
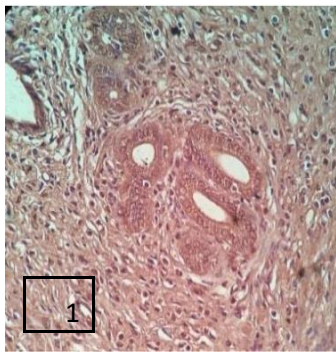
J Mol Endocrinol, 56:R55–R71

Willey J.M, Sherwood L.M, Woolverten C.J. 2009. Prescott's Principle of Microbiology.

McGraw-Hill Higher Education. New York.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Penelitian





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341)
558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Fatika
NIM : 14620093
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Prof. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Jeringau (*Acorus calamus*), Temu
Mangga (*Curcuma mangga*), dan Bawang Putih (*Allium*
sativum Linn.) Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Uterus
Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*) Induksi Cisplatin

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd.
1	12 Mei 2021	Revisi bab I, II, III	
2	18 Mei 2021	Revisi bab IV, V	
3	29 Mei 2021	Penyetoran bab I - V	
4	30 Mei 2021	Revisi bab IV	
5	7 Juni 2021	Revisi akhir	

Pembimbing Skripsi

Prof. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 197109192000032001

Malang,
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002






KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Fatika
NIM : 14620093
Program Studi : Biologi
Semester : Genap/ TA. 2020-2021
Pembimbing : Mujahidin Ahmad, M. Sc
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Jeringau (*Acorus calamus*), Temu Mangga (*Curcuma mangga*), dan Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen Uterus Tikus Putih Betina (*Ratus novvergicus*) Induksi Cisplatin

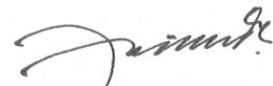
No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Mei 2021	Setor ayat	
2.	19 Mei 2021	Penambahan hadist	
3.	30 Mei 2021	Revisi ayat dan hadist	

Pembimbing Skripsi,



Mujahidin Ahmad, S. Pt., M. Sc
NIDT. 19860512 20160801 1 060

Malang, 2021
Ketua Prodi Biologi,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002